

## ⑰公開特許公報(A)

昭54-145283

⑯Int. Cl.<sup>2</sup>  
C 12 D 13/00識別記号  
108 36(2) D 231⑯日本分類  
厅内整理番号  
6760-4B⑯公開 昭和54年(1979)11月13日  
発明の数 1  
審査請求 未請求

(全3頁)

## ④2,5-ジケトグルコン酸の製造方法

⑤特 願 昭53-142150

⑥出 願 昭53(1978)11月17日

優先権主張 ⑦1977年11月18日 ⑧米国(US)  
⑨852950⑩發明者 ドナルド・アルバート・キタ  
アメリカ合衆国コネチカット州  
エセツクス・メドウウツズ・ロード(番地なし)

同 カーリーン・エリザベス・ホー

ル  
アメリカ合衆国コネチカット州  
ニューヨーク市イースト・フォーティセカンド・ストリート23  
5  
⑪出願人 ファイザー・インコーポレーテッド  
アメリカ合衆国ニューヨーク州  
ニューヨーク市イースト・フォーティセカンド・ストリート23  
5  
⑫代理 人 弁理士 湯浅恭三 外2名

## 明細書

## 1. [発明の名称]

2,5-ジケトグルコン酸の製造方法

## 2. [特許請求の範囲]

1. グルコノバクター セリヌス (Gluconobacter Cerinus) をグルコース培地中で好気的に培養し、次いで得られた2,5-ジケトグルコン酸を回収するか、或は酵母プロセスを選択的に選んで2-ケトグロン酸及び2-ケトグロン酸を生産するように化学処理することからなる、2,5-ジケトグルコン酸を生産する方法。

2. 培地中のグルコース濃度が2.5ないし20%、酸酵温度が20から35℃、初期pHが3.5から7.5で、酸酵期間中のpHを約5.5に保つ特許請求の範囲第1項に記載の方法。

3. 当該グルコノバクター セリヌス (Gluconobacter Cerinus)がIFO 3263株である特許請求の範囲第1項又は2項に記載の方法。

4. 当該グルコノバクター セリヌス (Gluconobacter Cerinus)がIFO 3266である

特許請求の範囲第1項又は2項に記載の方法。

5. 実質的に実施例1又は2に記載されている特許請求の範囲第1項記載の方法。

6. 特許請求の範囲第1項ないし5項のうちのいずれかの方法によつて製造した2,5-ジケトグルコン酸、2-ケトグロン酸又は2-ケトグルコン酸。

## 3. [発明の詳細な説明]

本発明は2,5-ジケトグルコン酸の製造に関するものである。

2,5-ジケトグルコン酸はビタミンC合成の有用な中間体である。これまで2,5-ジケトグルコン酸はアセトバクター メラノゲナム (Acetobacter Melanogenum)、アセトバクター アウランチウム (Acetobacter Aurantium)、グルコノバクター ルビギノサス (Gluconobacter Rubiginosus)、グルコノバクター リクエファシヨンス (Gluconobacter liquefaciens)及びシュードモナス セサミ (Pseudomonas Sesami)のような種々異なる種の細菌

によつて生産されてきた。しかしこれらの微生物を使用すると、培養の副産物として多量の褐色ないし黄褐色の色素が生産され、それによつて一緒に生産される2,5-ジケトグルコン酸の純度が低下するためにこれらの微生物の使用は工業的見地からは完全に望ましいものではない。

米国特許3,790,444はアセトバクター フラガム (Acetobacter fragum)と命名した新種による褐色の色素を伴わない2,5-ジケトグルコン酸の生産を主張している。

本発明は容易に入手し得る公的に保存されているグルコノバクター セリヌス (Gluconobacter Cerinus)を用いた2,5-ジケトグルコン酸の調製の為の経済的方法に関するものである。これらの株のうちの2つ、IFO 3263及び3266は2,5-ジケトグルコン酸を95%以上の収量で(グルコースに基づく)生産する。

2,5-ジケトグルコン酸はアスコルビン酸製造の中間体として有用である。2,5-ジケトグルコン酸の水溶液はアスコルビン酸及びエリソルビン

酸に転換することのできる2-ケトグロン酸及び2-ケトグルコン酸の混合物へと選択的に還元される。

2,5-ジケトグルコン酸は、本発明によればグルコノバクター セリヌス (Gluconobacter Cerinus)の容易に入手し得る株を用いて、グルコースに対するその細胞作用により容易に調製することができる。グルコノバクター セリヌス (Gluconobacter Cerinus)の肥育された公的に保存されているすべての株を試験したが、その結果これらすべてはケト酸を50-95%の収率で(グルコースに基づく)生産するということが示された。グルコノバクター セリヌス (Gluconobacter Cerinus) IFO 3263又は3266を採用した場合、生産されるケト酸は完全に所望する2,5-ジケトグルコン酸でありその収率は95%以上(グルコースに基づく)である。入手し得る公的に保存されているグルコノバクター セリヌス (Gluconobacter Cerinus)の株は次の通りである。

IFO 3262 (ATCC 12303)

3263

3264

3265

3266

3267

3268

3269

3270

グルコノバクター セリヌス (Gluconobacter Cerinus)のこれらの株は宅炭素源がグルコースである培地中で培養する。これらの微生物はペプトン又は肉エキス等の高価な有機窒素源を要求しない。尿素又は硫酸アンモニウム、硝酸アンモニウム又はリン酸アンモニウム等の無機窒素源を使用する場合、必須生育因子としてニコチン酸を添加する。

培地中のグルコース濃度は2,5-ジケトグルコン酸を得る為には2.5-20%の間の値、好ましくは10-12%の間の値が良い。

発酵温度は2.0-3.5℃の間、好ましくは2.5-3.0℃の間、最も好ましくは約2.8℃が良い。培養培地の初期pHは3.5から7.5、好ましくは5ないし6の範囲にわたる。発酵期間中pHは水酸化ナトリウム溶液を添加することにより約5.5に維持する。pH調節の為には炭酸カルシウムを用いることが可能であり、調製した培地にオートクレーブをかけた後でグルコース110gあたり30gの量を加える。

接種後、酸酵培地を機械的攪拌機で約1700回転/分の割合で攪拌し、毎分プロスの0.5ないし1等容の空気を通氣する。

グルコノバクター セリヌス (Gluconobacter Cerinus) IFO 3263又は3266を採用し、2,5-ジケトグルコン酸の収率が最低90%(グルコースに基づく)になるまで(3.6-4.0時間)培養を行う。

グルコースから2,5-ジケトグルコン酸への変換は以下の経路を辿ることがペーパークロマトグラフィーによつて決定された。

グルコース→2-ケトグルコン酸→2,5-ジケトグルコン酸。

グルコース→5-ケトグルコン酸→2,5-ジケトグルコン酸。

メチルエチルケトン：アセトン：硫酸：水(80:6:2:12)の溶媒系を用いワットマンNo.1及びNo.4のペーパーを使用した。酸のスポットは1%の硝酸を含有する0.2%の0-フェニレンジアミンのエタノール溶液をスプレーし、約70℃に加熱することによりその位置を決定した(5-ケトグルコン酸一青；2-ケトグルコン酸一黄；2,5-ジケトグルコン酸一緑)。高圧液体クロマトグラフィーを同定用に使用することも可能である。

2,5-ジケトグルコン酸は最終醸酵プロセスから商業界周知の便宜的な方法のいずれかによつて分離、回収することが可能である。丹済した醸酵プロセスは、そのままホウ素化水素で処理し、得られた2-ケトグルコン酸及び2-ケトグロン酸の混合物を加水分解してアスコルビン酸及びエリソル

ビン酸を生産するように化学加工処理することもできる。

#### 実施例 1

以下の液体培養培地を調整する：

成 分	g/l
グルコース	25
コーンステーブリカ	5
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.5
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.5
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.2
CaCO <sub>3</sub>	6.3

pH 6.2

1lの培地を含有する瓶とうフラスコを121℃で30分間オートクレーブかける。冷却した培地のpHは5.0である。栄養寒天斜面からのグルコノバクター セリヌス (Gluconobacter Cerinus) IFO 3263の細胞(20mlの破壊酵母液の5ml)をこのフラスコに加え、次いでこのフラスコをロータリーシエーカー上約28℃、約24時間振とうする。

#### 実施例 2

グルコノバクター セリヌス (Gluconobacter Cerinus) IFO 3266を用いて実施例1の方法を繰り返し四重し得る結果を得る。

特許出願人 ファイザー・インコーポレーテッド

代理人 弁理士 湯 梶 茂 三

(外2名)

以下の生産培地2lを含有する4lの攪拌醸酵槽に、5% (容量/容量) の接种量となるだけの十分な量の培養物を加える。

成 分	g/l
グルコース	110
コーンステーブリカ	0.5
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.58
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.5
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.5
尿素	0.5
CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	1mg
ニコチン酸	300mg

pH 6.0

約28℃の温度、1700回転/分の攪拌、毎分プロセスの0.75等容の通気により醸酵を行う。約20時間の醸酵期間の後、破壊したグルコースを加える(55g/l)。水酸化ナトリウム溶液を加えてpHを5.5に維持する。2,5-ジケトグルコン酸の収率が95%以上(グルコースに基づく)になるまで醸酵を続ける。

BEST AVAILABLE COPY

? S PN=JP 54145283

S3

1 PN=JP 54145283

? T S3/7

3/7/1

DIALOG(R) File 351:Derwent WPI  
(c) 2006 Thomson Derwent. All rts. reserv.

002239791

WPI Acc No: 1979-38984B/197921

2,5-Diketo-gluconic acid preparation - by aerobic culture of acetobacter cerinus in glucose medium and opt. reduction to 2-keto-gulonic and 2-keto-gluconic acids

Patent Assignee: PFIZER INC (PFIZ )

Number of Countries: 020 Number of Patents: 023

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
BE 872095	A	19790517			197921	B
DE 2849393	A	19790523			197922	
GB 2008116	A	19790531			197922	
NL 7811353	A	19790522			197923	
DK 7805129	A	19790611			197927	
NO 7803877	A	19790611			197927	
SE 7809345	A	19790618			197927	
PT 68789	A	19790717			197931	
BR 7807524	A	19790724			197932	
FI 7802871	A	19790731			197935	
FR 2409304	A	19790720			197935	
ZA 7806487	A	19790918			197946	
JP 54145283	A	19791113			197951	
HU 17724	T	19800228			198011	
DD 140459	A	19800305			198025	
AT 7808231	A	19810215			198111	
RO 75389	A	19801130			198125	
GB 2008116	B	19820317			198211	
JP 82009357	B	19820220			198211	
CA 1119981	A	19820316			198215	
DE 2849393	C	19830505			198319	
CH 643592	A	19840615			198430	
IT 1101715	B	19851007			198707	

Priority Applications (No Type Date): US 77852950 A 19771118

Abstract (Basic): BE 872095 A

Prodn. of 2,5-diketogluconic acid (I) by aerobic culture of Acetobacter cerinus in a glucose contg. medium followed by recovery of (I) or selective reduction of the fermentation broth to yield 2-ketogulonic acid (II) and 2-ketogluconic acid (III).

(I) is reduced selectively to give a mixt. of (II) and (III) which may be converted to ascorbic and erythorbic acids.

Present bacteria used to produce (I) produce large quantities of brown or brown-yellow pigments as by-products which lower the purity of products. US 3790444 uses Acetobacter fragum to avoid pigment production. The present process uses acetobacter cerinus which gives (I) in high yield without pigments.

Derwent Class: B05; D16; E17

International Patent Class (Additional): A61K-000/00; C07C-059/17;

C07H-003/02; C07H-007/02; C12D-001/02; C12P-007/60; C12R-001/01;  
C12R-001/02